

(海外・国内) 出張報告書 (学生用)

年 月 日提出

氏名	黒田 弥乃梨
所属	獣医衛生学教室
学年	博士課程 2 年
出張先	Rocky Mountain Laboratories (Hamilton, Montana, USA)
出張期間	2014 年 10 月 5 日～2014 年 11 月 5 日
目的	アストロサイトの機能解析法に関する共同研究

活動内容 (2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい)

プリオン病は致死性の神経変性疾患である。病原体の主要構成成分である異常型プリオンタンパク質は中枢神経系に蓄積し、やがて神経変性を引き起こす。現在のところ、有効な治療法はないが、神経変性に至るメカニズムを解明することで、治療法の確立のための情報が得られる可能性がある。プリオン病の病態進行に伴いアストロサイトが活性化するが、アストロサイトが、神経細胞にどのような影響を与えるのか、十分な理解は得られていない。私は、プリオン病の病態にアストロサイトが影響を与えるか明らかにすることを目的として、研究を進めている。現在まで、プリオン感染マウスから分離したアストロサイトの活性化状態の解析を進めてきた。次の段階として、神経細胞に対するアストロサイトの作用を明らかにするため、プリオンを感染させた初代培養神経細胞とプリオンを接種したマウス由来のアストロサイトを共培養し、アストロサイトが神経傷害的、または神経保護的に働くのかを解析することを計画している。Xona device は well 間にある microgroove を介して神経細胞の細胞体と軸索を区分して培養できるため、神経軸索および神経末端へのアストロサイトの作用を評価する実験系として有用である (写真 1)。アメリカのモンタナ州にある Rocky Mountain Laboratories の Dr. Gerald Baron と Dr. Jason Hallister は、神経細胞内でのプリオンの動態および神経細胞—アストロサイト間のプリオンの伝播経路を解析するため、Xona device を用いて、神経細胞とアストロサイトを共培養している。そこで今回、私は Xona device の使用法を習得するため、1 ヶ月間 RML を訪問した。

滞在中、Xona device を用いた神経細胞培養を 3 回行い、うち 2 回は自分で手を動かして手技を確認した (写真 2)。コーティング処理条件および播種する神経細胞数などの条件を検討し、最長 3 週間、培養を維持できた (写真 3)。彼らは神経細胞を培養する際、細胞毒性の少ない tube を使用し、コーティング処理を念入りに行い、当教室で使用している Neurobasal Medium より培養状態が良好であると報告のある、NbActiv4 を培養液として用いていた。当教室で実施している初代培養神経細胞は 40

日間維持可能である。当教室で、Xona device を用いても、プリオンを感染させた初代培養神経細胞を長期間維持できるように、今回得た情報を参考に、初代培養神経細胞の培養系を確立したい。

さらに、Xona device を用いて、播種した well から microgroove を介して反対側の well に伸長した神経の軸索末端にアストロサイトを播種する方法、および片側の well のみにプリオンを接種する方法など、Xona device の使用法の一例を示していた。

私は脳から分離したアストロサイトの活性化状態を解析するため、マウス脳から免疫磁気分離法 (MACS) を用いてアストロサイトを分離している。そこで、先方の希望により、MACS によるアストロサイトの分離法を実演した。彼らは、MACS により分離したアストロサイトが培養に応用できたことから、本法に興味を持っていただいた。彼らに教えてもらうだけでなく、彼らの研究に有用な情報を自ら提供できたことは良い経験となった。

RML での研究に関するディスカッションや、休憩中のスタッフとの交流を通して、印象的だったことがある。それは、スタッフの方々は皆役職など立場の違いはあるが、彼らは上司、部下にかかわらず、年齢を問わず誰でも意見を述べていたことである (写真 4)。スタッフの方達は、私にも研究内容について意見を述べるように促してくださり、私がつたない英語で意見を述べても真剣に聞いてくださった。学生でも一研究者としてみなされることに喜びを感じると同時に、身の引き締まる思いであった。また、日本では躊躇して疑問を口に出せないことが多々あったが、滞在中は、議論をスムーズに進めるため、基本的なことでも質問するように心がけた。意見や疑問など、思ったことを躊躇せず発言することが良いコミュニケーションにつながると実感した。

今回の訪問では、Xona device の基本的な使用法を習得できた。また、私が使用しているアストロサイトの分離法を伝え、アストロサイト活性化状態に関する自分の知見を先方に提供した。今後は、当教室で Xona device を用いた神経細胞培養を検討する過程で彼らと情報を密に交換し、培養系を確立したい。

最後に、今回の海外共同研究演習にあたり、堀内基広教授、Dr. Gerald Baron をはじめ、RML のスタッフの皆様、国際連携推進室・リーディング大学院担当の方々、および獣医衛生学教室の皆様に多くのご教授やご支援を賜りました。ここに改めて謝意を表します。

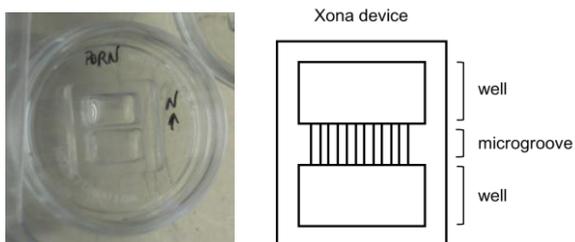


写真 1. Xona device

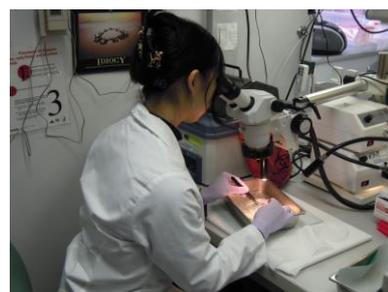


写真 2. 神経細胞の初代培養の作業工程



写真 3. Xona device を用いて培養した神経細胞



写真 4. RML スタッフとの交流の様子

指導教員確認欄	所属・職・氏名： 獣医衛生学教室 教授 堀内 基広 <div style="text-align: right;">印</div>
---------	--

※1 電子媒体を e-mail で国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出するとともに、指導教員が押印した原本を国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出して下さい。

提出先：国際連携推進室・リーディング大学院担当

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp